

法政大学学術機関リポジトリ
HOSEI UNIVERSITY REPOSITORY

単独固着型ツリガネムシの形態的特徴とその固着分布

著者	堀上 英紀, 石井 圭一
出版者	法政大学教養部
雑誌名	法政大学教養部紀要. 自然科学編
巻	56
ページ	51-68
発行年	1986-01
URL	http://hdl.handle.net/10114/4315

単独固着型ツリガネムシの形態的
特徴とその固着分布

堀 上 英 紀

石 井 圭 一

序 論

ツリガネムシ(*Vorticella*)は幼生時に後部繊毛を持ち水中を自由遊泳するが、やがて水中の固形物表面に接着して繊毛を失ない、柄を形成して成体となる変態性固着繊毛虫としてポピュラーな原生動物である。現在約90種が知られているが、これらのうちで極めてコンパクトな固着集団を形成するものがあることは古くから知られている(文献-1)。この集団固着過程の詳細と集団の分布解析についてはすでに一部を報告した(文献-2)。

一方、まったく集団を形成せず、常に単独で固着するツリガネムシがいることが判明した(文献-3)。この単独固着性は集団固着性と同様にツリガネムシの種に関する特性で、単独固着種はどのような実験条件下でも集団を形成せず、形態学的にも集団固着種と異なる共通性を持ち、増殖に伴う変態行動や生息環境などにも興味ある相違点が見い出された。単独固着の分布様式の解析とともに、これらの諸点について報告する。

材料および方法

諏訪市の池で採集した単独固着*V. sp.*(未同定)を主として実験材料に用いた。実験にはGiese(1973)のStandard balanced salt solution(SBS): NaCl , $1.78 \times 10^{-3}\text{M}$; KCl , $3.08 \times 10^{-4}\text{M}$; MgCl_2 , $4.16 \times 10^{-4}\text{M}$; MgSO_4 , $1.62 \times 10^{-6}\text{M}$; CaCl_2 , $6.80 \times 10^{-6}\text{M}$ を用い、pHは1%NaOH液で 7.0 ± 0.3 に調

整した。マコモ浸出液を口過したものを一定量 SBS に加えて培養液とした。実験容器として 2mm 格子の付いた直径 6 cm プラスチック・シャーレ (Contur Dish, Lux Scientific Corporation) を使用した。各種ツリガネムシの生息場所の水質調査のために、250 ml のポリエチレン製ビンに半量採水し、研究室に持ち帰り指標生物 (文献-4) の調査をおこなった。高等沈水植物はビニール袋に入れて持ち帰った。ツリガネムシの外形測定は、生体のままニコン倒立顕微鏡 (MTD) で直接測るかまたはフィルムに撮影して計測した。ツリガネムシの幼生の収集は、マコモ浸出液を一定時間与えた後、SBS で数回シャーレを洗浄して放置し、その後遊出した幼生を集めた。固着分布の測定には、実験シャーレの格子を利用し、各格子内の固着数を実体双眼顕微鏡 (SMZ, 日本光学) 下で計数記録した。分布様式の統計的解析は、主として蔽の平均こみあい度 (MC) と平均密度との関係を用いる方法および森下の Iδ 法 (文献-5) によった。

結 果 と 考 察

単独固着種の形態学的特徴

これまでに採集できた単独固着種の成体 (2 種) (図-1) は、いずれも一見して小型で周口部が狭く、壺形を呈しており、朝顔の花のように周口部の広い集団固着種と外形上の相違があるように思われた。そこで細胞体の周口部の巾 (pw) に対する体長 (bl) および最大体巾 (bw) の比を求めた結果 (図-2), 単独固着種の bl/pw 値は 1.8 ~ 2.4 の範囲内にあり、集団固着種は 0.9 ~ 1.2 であった。また、 bl/pw 値は前者が 0.9 ~ 1.5 で、後者は 0.7 ~ 0.9 となり、細胞体の外形に両種間で明瞭な差のあることがわかった。細胞体の下部より生ずる収縮性の柄についても、単独固着種の方が細く、短い (図-3) ことがわかった。

一方、遊泳幼生については、その体長と後部繊毛環の巾 (pcw) との比に特徴がみられ、単独固着種の外形の方が細長型であった (その bl/pcw 値は 3.2 ~ 3.9, 集団固着種では 1.3 ~ 2.3) (図-4)。これらのことから、ツリガネムシでは幼生、生体ともにその固着型に特有の外形的特徴を持っていることがわかった。

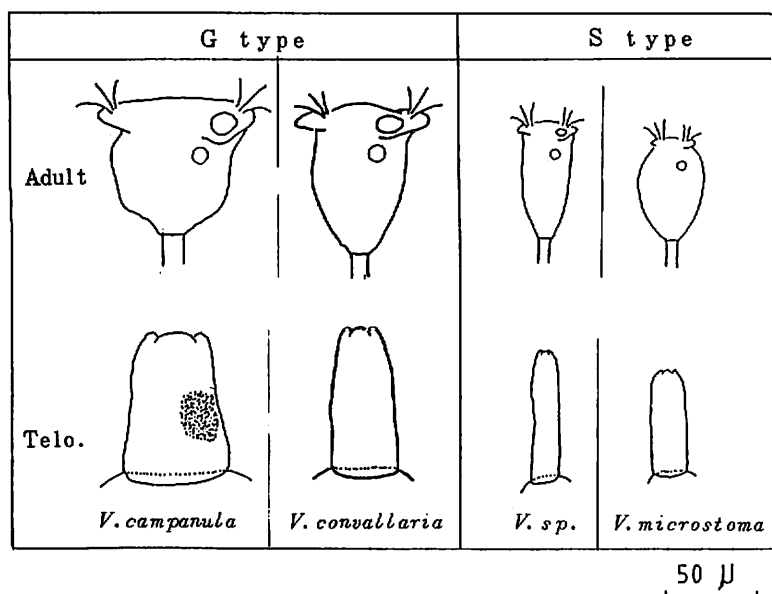


図1 集団固着型(G)および単独固着型(S)の成体と遊泳幼生の外形

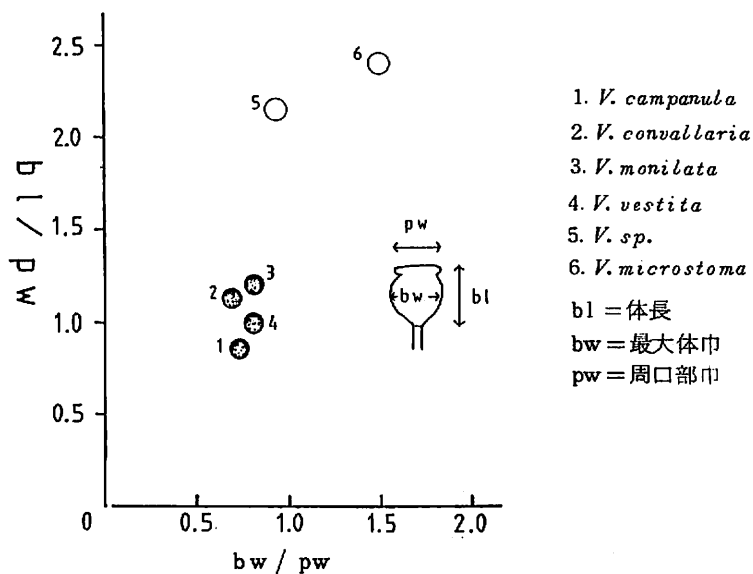


図2 両固着型の外形比の比較

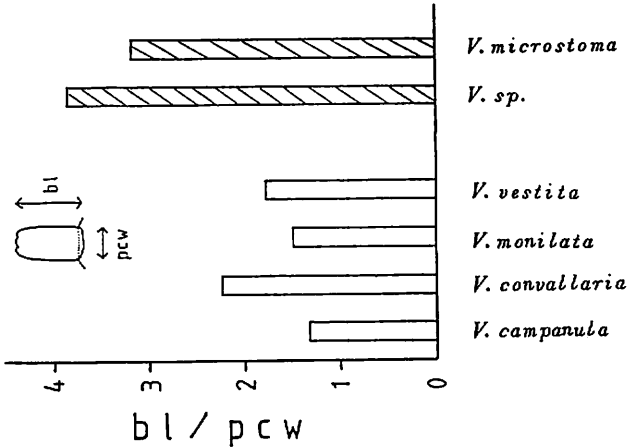


図4 遊泳幼生の外形比の比較
bl = 体長, pcw = 後部絨毛環巾

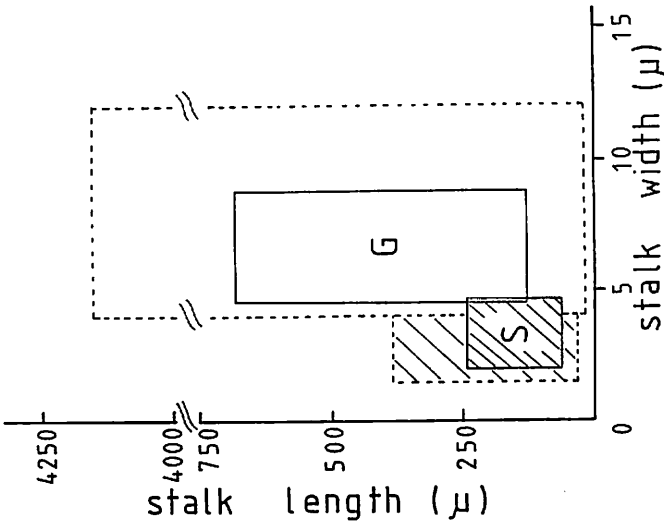


図3 両固着型の柄の比較
実線は採集した両型の実測値の範囲を示す。
破線はNoland and Finley (1931)の測定値をもとに作成。

生態学的特徴、その他

採集時にその水系中にみられた水質指標生物（指標原生動物は Liebmman の汚水生物大系によった）から両固着種の生息環境を推測してみた（図－5）。表にみられるように単独固着種は主として腐水性の強い水質に適応しているが弱い水質にも生息できる。集団固着種はいずれも腐水性の弱い水質に生息していて強腐水性には適しないようである。

indicator \ type	G	S
<i>Strombilidium</i>	+	—
<i>Halteria</i>	++	+
<i>Actinophrys</i>	++	+
<i>Arcella</i>	++	+
<i>Stentor</i>	+++	+
<i>Spirostomum</i>	++	++
<i>Lionotus</i>	+++	++
<i>Epistylis</i>	+++	++
<i>Carchesium</i>	+++	+++
<i>Euglena</i>	+	+++
<i>Amoeba limax</i>	—	+
<i>Metopus</i>	—	++
<i>Sphagnum</i>	—	+
<i>Desmids</i>	—	+
<i>Oscillatoria</i>	+++	++
Submerged plant	+++	+
pH	6.8 — 8.1	6.7 — 7.8

図 5 採集水中の水質指標生物と両固着型との関係

ミズゴケは嫌石灰植物の典型（文献－6）とされている。Smith（1950）によればチリモは軟水で生育する藻類であり、ランソウや水生高等植物は硬水で生育する植物であるという。図－5より、単独固着種は軟水・硬水ともに生息でき、集団固着種は硬水を好むように思われる。

長期間の培養を通じて、*V.sp.*（以後は本種と記す）は集団固着種よりも細菌に対する耐性が強く、餌の過多による死滅は一度もなかった。集団固着種はいずれも餌の過多および欠乏で容易に全滅することがしばしばあった。これらのことは、上述の結果をよく支持している。

餌の欠乏に伴うシスト形成は、本種と*V.convallaria*で観察された。本種では直立した柄の先端に球形のシストが栄養の低下などの原因で容易に作られるが、*V. convallaria*では柄がよれよれに折れてシストが器底に直かに、しかも他のシストと互いに接触し合って、ちょうど遊泳幼性の集団固着後の様相を連想させるのが常であった。しかし、*V. convallaria*にシストを形成させるのは容易ではなかった。

本種において、2分裂に続く幼生への変態は、集団固着種のように2娘細胞間ではば同時におこるのではない。片方の娘細胞が幼生化し柄から遊出した後で、他方が幼生化を開始するので、かなりの時間的ずれ（遊出するまでに1時間以上ずれる）がみられた。このため培養シャーレ内での幼生の遊出が同調せず、集団固着種のように限られた時間内に一斉に幼生が遊出することなく、むしろいつでも遊泳幼生を観察できた。

増殖に伴う固着個体の遷移

プラスチック・シャーレに適当数の遊泳幼生を移し、培養に伴う増殖によって固着分布（図－6）がどのように変化するか調べた。シャーレ底の任意の1区画（2×2mm）を抽出した結果を（図－7）に示す。

集団固着型では同期的細胞分裂の結果、先在する固着個体は一斉に幼生となり、すべて器底から離脱し、集団遊泳して新たな場所に移転して成体となる。従って増殖の都度、それまでの固着分布は完全に御破算になり、新しい分布様式が展開される。

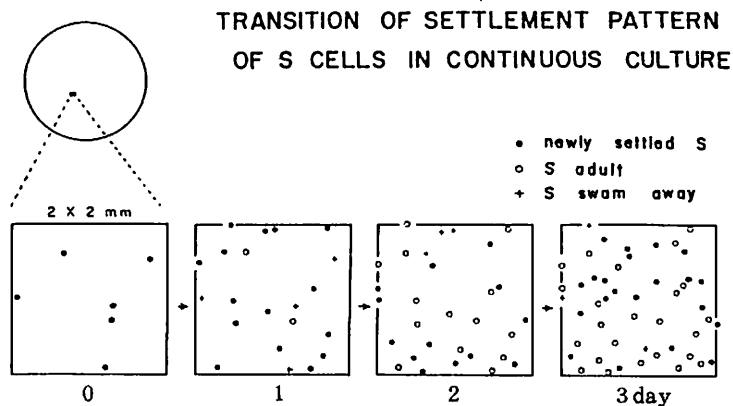


図6 単独固着種 *V.sp.* の分布の変遷

直径 6 cm プラスチック・シャーレ内の 1 区画 (2 × 2 mm)
の分布を 3 日間連続調査した。

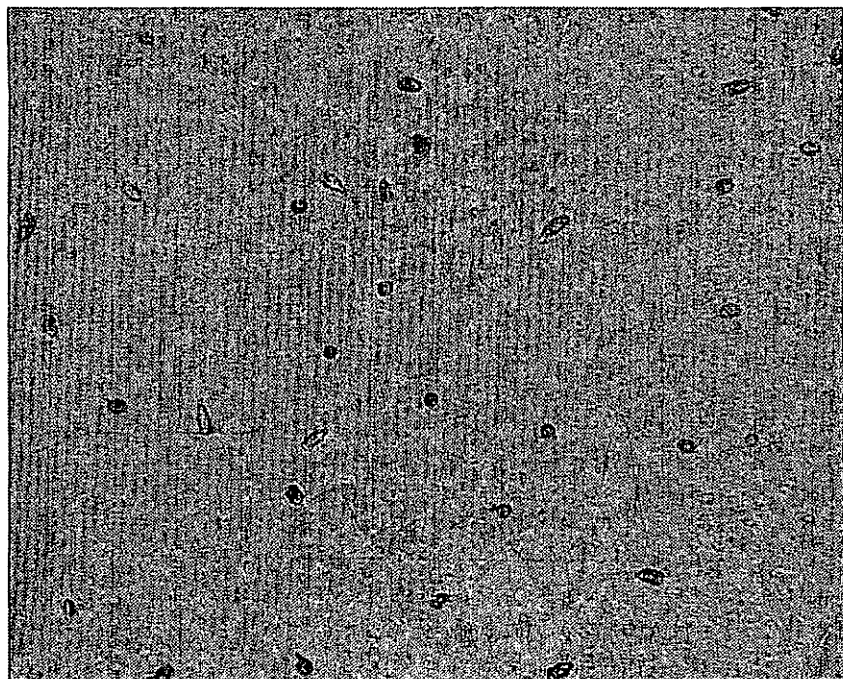


図7 *V.sp.* のシャーレ底の固着分布状態

本種ではこのような集団固着型と全く異なり、増殖に伴う各個体の生態はより複雑で、次の3様式があることがわかった。①2分裂して生じた2娘細胞のうち、1個体は柄に残存し旧位置にとどまる。もう一方の個体は幼生となって柄から離脱し、遊泳して器底の新位置に単独で固着する。②2娘細胞とも柄から離れ、各々新たに固着する。ただし両幼生の遊出が前述のように同時でない点で集団固着種と異なる。③分裂とは関係なく、固着個体が柄を切り遊泳し、新たな場所に移動する。一般に①が最も普通で、次いで②であり、③は培養条件が良好な場合は最も少ないようである。

同一培養内でこのような3様式に分かれる理由は現段階では不明であるが、毎分裂回御破算式と比較して、この様式は分布の均等化により有効な行動と考えられる。

増殖に伴う個体密度の分布

上記と同様の培養シャーレ内で、各増殖段階で容器底に固着している個体の度数分布曲線を求めた。シャーレ当たりの総個体数最小418，最大9625の間の5増殖段階の密度で、 2×2 mm 方形枠を使用してサンプリングした結果、どの密度段階においてもポアソン分布の傾向を示していることが判明した（図-8）。

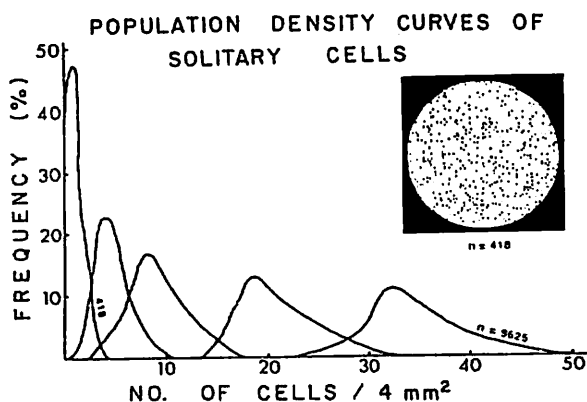


図8 種々の個体密度における *V.sp.* のシャーレ内
度数分布曲線
挿入図は総個体418の分布パターンを示す。

さらに、分布の偏りの有無を知るために、各密度段階で上記方形枠をシャーレ当たり 50 区画ずつ任意に抽出し、 X^2 検定した(図-9)。

	Cells / 4 mm ²	S D	X^2	$X^2(0.05)$
w i l d	1	± 1.73	12,694	36,415
	3	4.68	20,519	"
	10	2.98	46,765	66,338
	22	5.27	63,285	"
	34	4.62	5,728	15,507
p e d i g r e e d	1	2.58	15,182	36,415
	6	7.07	22,251	"
	22	5.05	57,276	66,338
	25	4.81	45,200	"
t e l o	11	3.70	20,017	24,996
	17	4.86	22,235	"
	39	6.82	19,010	"

図9 各種密度における *V.sp.* の分布偏りの X^2 検定

上記同様の野生株のほか、1 個の幼生から増殖させた細胞群、および別に多量に培養した野生株から遊泳幼生のみを抽出し、新たにシャーレに移して一斉に固着させたもの、の3種類を材料として使用した。結果は、いずれの密度段階でも5%の有意水準で分布に偏りがあるとは言えず、また材料による相違もみられなかった。このことから材料の相違と密度の高低にかかわらず、シャーレのどの部域においても、ほぼ一様に固着することがわかった。

分布の様式

この固着分布が完全にポアソン分布を示すものか、あるいは各個体間の反発効果を予想させる均一分布であるかどうかを知るために次の検定を行なった。厳に

れば平均こみあい度 ($MC = \bar{X} + S^2 / \bar{X} - 1$) と平均密度 (\bar{X}) との関係は直線回帰で、ランダム分布の場合はMC軸の切片 α は0、勾配 β は1となり、均一分布の場合には $-1 \leq \alpha < 0$ 、 $\beta \leq 1$ の直線となる。この関係を利用してツリガネムシの種々の固着平均密度の場合を検定してみると(図-10)、少なくとも $\bar{X} \geq 10$ の密度ではほぼ $MC = \bar{X}$ の直線にのり、ポアソン分布に一致することがわかった。しかし平均密度が10以下の場合には $MC = \bar{X}$ の直線のやや下方にずれる傾向がみられた。比較のため集団固着型のツリガネムシを用いた固着実験結果を検定すると、 \bar{X} が1.6の時にMCは134、3の時に163であり、いずれも著しい集中分布をしていることがわかった。

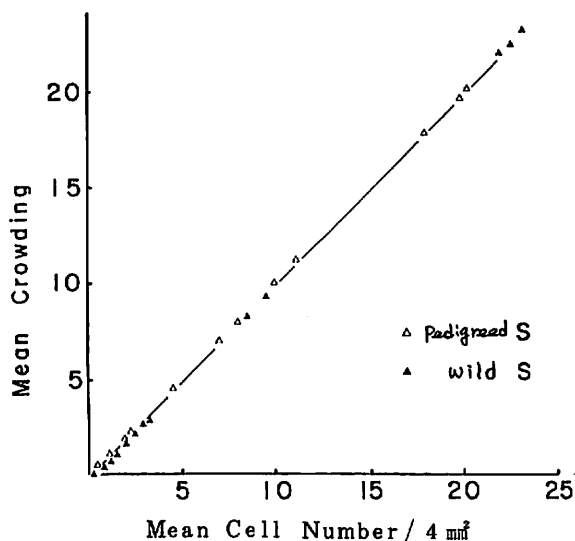


図10 平均こみあい度(MC)と平均密度(\bar{X})からみた分布の検定

さらに念のため森下の集中度検定法で $I\delta$ を求めてみた(図-11)。この検定法ではポアソン分布のときは $I\delta = 1$ 、集中分布で $I\delta > 1$ 、均一分布で $I\delta < 1$ とな

る。単独固着型ツリガネムシでは $\bar{X} \geq 10$ ではいずれも $I\delta = 1.0$ で完全にランダム分布であることを示し、 $\bar{X} < 2.5$ では $I\delta$ は $0.84 \sim 0.88$ でやや均一分布の傾向があることを示した。集団固着型では $I\delta$ 値は 54.6 と 83.9 になり、強い集中分布を意味している。

	\bar{X}	S^2	\bar{X}^2	$I\delta$
単 独 固 着 型 Adult+Telo	1.3	1.079	1.69	0.87
	2.5	1.725	6.25	0.88
	10.0	10.700	100.00	1.01
	28.5	29.355	812.25	1.00
固 着 型 Telo	1.0	0.840	1.00	0.84
	2.0	1.420	4.00	0.86
	10.9	13.625	118.81	1.02
	39.1	46.138	1528.81	1.01
集 団 固 着 型 Telo	1.6	213.808	2.56	83.89
	3.0	485.190	9.00	54.58

図 11 集中度検定法 $I\delta$ からみた *V. sp.* の分布パターン

さて、両検定とも $\bar{X} < 10$ では完全にポアソン分布とは言い難い結果となった。ポアソン分布の場合には $S^2/\bar{X} = 1$ 、反発効果に起因する完全均一分布ではこの値は 0 となるので、平均密度 5 以下の場合について \bar{X} に対する S^2/\bar{X} の関係をより詳しく調べてみた（図 - 12）。グラフから明らかなように野生株をバッチ培養してみると、密度増加と共に S^2/\bar{X} の値が 1 より小となり、 \bar{X} が 1 ～ 3 の範囲では、その値は 0.5 近くまで減少した。これをポアソン分布の理論値と有意差があるかどうか X^2 検定により調べると、 S^2/\bar{X} 値が 0.7 より小のときには 5% の有意水準で明

瞭な有意の差がみられ、その分布は均一化の傾向があると考えられる。またパッチ培養ではなく、野生株の幼生を新しいシャーレに移して固着させ、その分布状態を調べても、全く類似の密度範囲で同様の結果が得られた。

しかし、1匹の幼生からパッチ培養によって増殖させた集団では、どの平均密度においてもほぼポアソン分布となり、均一分布の様相は全くみられなかった。

また、固着している成体に強く水流を吹き付けるような機械的方法によって、人為的に器底から遊離させ、翌日これらの個体が再固着した後の分布を調べても完全なポアソン分布となった。

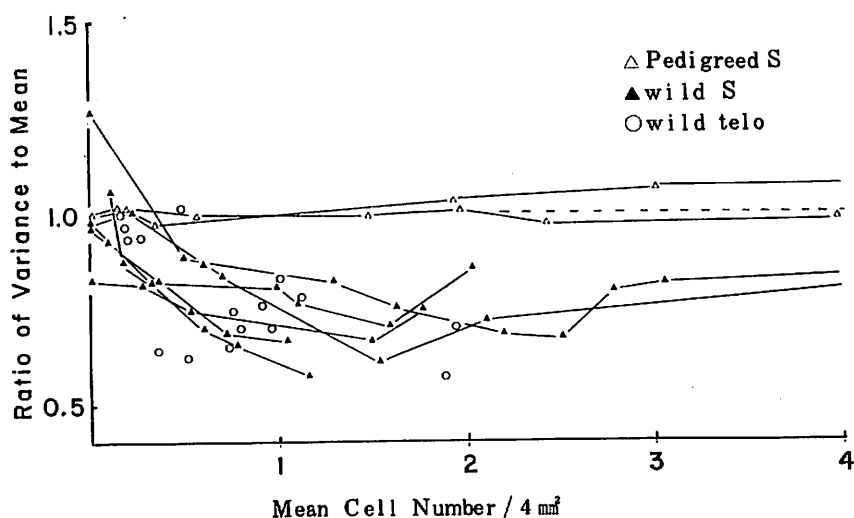


図 12 低密度時の分布パターンの分析

S^2/\bar{X} の値が1.0ならばポアソン分布を、0.7より小なら均一分布。 S^2 =バリエンス、 \bar{X} は平均固着密度。

先着個体の干渉

別に培養した幼生を新しいシャーレに順次追加しながら固着させていくと、追加された幼生はすぐに固着せず長時間遊泳するものが増えることが観察された。そこで、新しいシャーレの一部分(4×5区画)を仕切って、そこでの幼生の固着率を

調べた。初回に多数の幼生を移し入れ、30分後に計数すると207個体(平均密度10.3)が固着していた。ついで、外液を多数の新幼生の入ったものと取り換えて1時間後に調べると全固着数は255個体(平均密度12.7)で、追加幼生の固着率は初回を基準にするとその23%に減少している。そこで再度多数の新幼生の入った外液と交換して1時間後に計数すると全固着数は304個体で、追加幼生の固着率は先住個体数のほぼ20%である。これらのことから、先着細胞と後着幼生との間になんらかの固着抑制現象があるのではないかと予想できる。

そこで、あらかじめツリガネムシを様に固着させたカバーグラス(18×18mm)を使用し、これを新しいシャーレ底の中央に沈めて固定し、新幼生を追加して数日間培養し(3日目に外液交換)、その間の器底各区画の密度と分布の偏りがどう変化するかを調べた(図-13)。その結果、培養開始後しばらくの間はどの区画も固着個体数はほぼ一様に増加するが、先着母集団(カバーグラス上)の密度は約30個体/4mm²に達した時点以後はほとんど増加しなくなる。この間、母集団地域以外の器底では密度が増加し続け、数日後ついに母集団と等しい密度に達し、器底全域にわたって分布密度はほぼ等しくなる。この密度増加は先着母集団との距離とは関係なく、どの区画もほぼ均等であり、先着

TRANSITION OF POPULATION DENSITY (S CELLS)

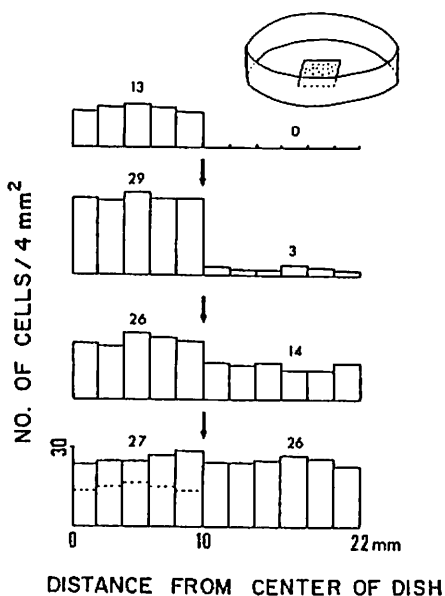


図13 人為的に偏りをつけた分布の変遷
上図から培養初日、4日目、5日目、6日目のシャーレ内区画あたりの平均密度。最下図中の破線は初日の固着密度を示す。

母集団の密度が一時的に低下し、集団外の器底へ移住する“なだれ”現象もみられないようである。

これらの結果から、先着母集団地域（カバーグラス上）はそれ以外の器底地域に比較して確かに固着率が低いと言えよう。しかし、もし幼生の固着率に先着成体になんらかの干渉をしているなら、またその抑制要因が化学物質によるものと仮定するなら、先着集団に隣接する区画と離れた区画とで固着率に相違があるはずである。

固着率におよぼす餌の影響

上記矛盾を説明できる要因として、ツリガネムシは餌の多量にある地域に集まる化学走性を示すのではないかと想像した。この作業仮説を証明するために、洗浄したカバーグラスと、培養液中に数日間沈めておいてツリガネムシの餌となる細菌を表面に付着させたカバーグラスとに対する幼生の固着率を調べた（図-14）。両カバーグラスを新しいシャーレ内に沈め幼生を追加してその固着状態をみると清浄カバーグラスは器底地域とほぼ同率（56.2%）の固着率を示した。一方細菌の付着したカバーグラスの固着率は95.4%で、投入した幼生のほとんどすべてがこのカバーグラス上に固着したことになる。

SETTLEMENT RATIO (%) OF S. TELOTROCHS ON SUBSTRATUM

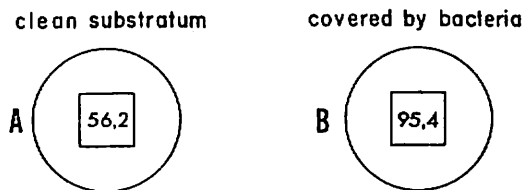


図 14 幼生の固着率におよぼす餌の影響

A. 洗浄カバーグラス、B. 餌細菌を付着させたカバーグラス。

このような圧倒的高固着率を引き起こす要因に餌となる細菌がなりうることから、前項の実験では先着母集団のカバーガラス上に多量に含まれる細菌の固着促進効果によって、先着母集団の新幼生固着抑制効果がかかなり相殺されて結果がでているものと考えてよさそうである。しかし現段階では、この抑制効果が化学的情報によって仲介されているのか、物理的情報によるのか全く不明である。単細胞動物にみられるこの現象は高等動物における“なわばり”現象の起原を暗示するものと考えすることはできないであろうか。

異種ツリガネムシ混合培養の効果

単独固着型のツリガネムシ幼生の固着が集団固着型個体の存在によって、どのような影響をうけるか、後者を培養したシャーレ内に前者の幼生を投入して混合培養を試みた。通常両者は生息する水質を異にするが、両種混合状態でもしばらくは共存することがわかった。この間どちらにも別個に培養した場合と同様に固着分布して、単独型の個体が集団型の集団内に混在したり、集団型のものが集団を解除して単独型に混合したりすることは全くみられなかった。

つまり、それぞれの種に特有の固着分布型を独立に維持し続け、固着型を異にすれば分布に関する共通の情報をもっていないらしい。結局このような機序がそれぞれの種の棲み分けを可能にしていると考えられる。

要 約

1. 単独固着種（2種）が採集でき、それらの外形の共通特徴を集団固着種（4種）のものと比較した結果、細胞の外形と固着型との間に密接な関連のあることが判明した。つまり、前者は後者よりも成体の周口部巾が体巾および体長に比して狭い。それらの幼生にも類似の傾向がみられた。
2. 単独固着種の生息環境は、主として強腐水性であり、餌の細菌の過多や欠乏に対して集団固着種よりもはるかに高耐性であった。
3. 本種では、増殖に伴う幼生化は、集団固着種のように両娘細胞同時に変態するのではなく、片方のみが幼生化し遊出するか、又はその後残りの娘細胞も遅れて

遊泳幼生となる。

4. 本種の野生株をバッチ培養して、その固着分布を検定した。区画当りの平均個体数が10以上の時にはポアソン分布を示したが、1～3の範囲では均一化の傾向がみられた。また、野生株の幼生を新しいシャーレに移した時の固着分布にも類似の密度範囲で、同様な結果が得られた。
5. 新シャーレに、本種の幼生を順次追加しながら固着させていくと、追加幼生の固着率が次第に低下した。このことから先着細胞と後着幼生との間になんらかの固着抑制現象が予想された。
6. ツリガネムシを一様に固着させたカバーグラスを新シャーレ中央に固定し、新幼生を追加して数日間培養した結果、先住母集団以外の器底ではどこもほぼ均等に密度増加がみられ数日後ついに母集団とほぼ等密度になった。つまり母集団地域外では固着抑制現象がみられなかった。
7. 清浄したカバーグラスよりも、餌となるバクテリアの付着したカバーグラスに対する幼生の固着率の方が圧倒的に高く、餌の固着促進効果が明らかになった。
8. 両固着型ツリガネムシの混合培養では、単独固着型の種が集団内に混在したり、集団固着型のものが集団を解除して、単独型の種と混合したりすることはなかった。

文 献

1. Noland, L. E. and H. E. Finley (1931) Studies on the taxonomy of the genus *Vorticella*. Trans. Amer. Micros. Soc. 50 : 81 - 123
2. 堀上英紀・石井圭一 (1976) ツリガネムシ幼生の集団行動。原生動物学雑誌 9 : 20
 Horikami, H. (1977) Two settlement modes of *Vorticella*. V Interenat. Congr. Protozool. Abstract № 157 New York
 堀上英紀・石井圭一 (1977) ツリガネムシ幼生の集団固着 (Ⅱ)。原生動物学雑誌 10 : 15 - 16
 堀上英紀・石井圭一 (1980) 単独型と集団型ツリガネムシの形態および生息環境の特徴。動物学雑誌 89 : 432
3. 堀上英紀・石井圭一 (1976) ツリガネムシ幼生の固着行動。動物学雑誌 85 : 369
 堀上英紀 (1978) 非集団型ツリガネムシの分散固着について。原生動物学雑誌 11 : 31
4. Sládečková, A. and V. Sládeček (1966) The indicator value of some sessile protozoans. Ach. Protistenk. 109 : 223 - 225
 盛下 勇 (1975) 生物指標としての原生動物, 環境と生物指標 2. 共立出版
 津田松苗・森下郁子 (1976) 生物による水質調査法, 山海堂
 Smith, G. M. (1950) The Fresh-water Algae of the United States. McGraw-Hill, New York
 Bick, H. (1972) Ciliated Protozoa. World Health Organization Geneva
5. 伊藤嘉昭・村井 実 (1977) 動物生態学研究法 (上) 古今書院
 石居 進 (1975) 生物統計学入門, 培風館

Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. (藤井宏一訳) (1983) 生物統計学, 共立出版

6. 門司正三他訳 (1964) ホルンデゴルト植物実験生態学, 岩波書店

法政大学第一教養部

東京都千代田区

法政大学第一教養部 門司正三他訳 (1985年9月20日受理)